

corr. US 5,821,349

**Derivatives of cyclodextrins, their preparation and their use for incorporating hydrophobic molecules into organized surfactant systems**

Patent Number: ☐ US5821349

Publication date: 1998-10-13

Inventor(s): PERLY BRUNO (FR); LIN JING (FR); DJEDAINI-PILARD FLORENCE (FR)

Applicant(s): COMMISSARIAT ENERGIE ATOMIQUE (FR)

Requested Patent: ☐ FR2736056 ✓

Application Number: US19960659824 19960607

Priority Number(s): FR19950007841 19950629


IPC Classification: C08B37/16 ; A61K31/715 ; A01N43/04

EC Classification: A61K9/127, A61K47/48W18B, C08B37/00M2B

Equivalents: AU5616496, AU699482, ☐ EP0751150, HU9601791, ☐ JP9012605, ZA9605364

**Abstract**

The invention relates to derivatives of cyclodextrins, their preparation and their use for incorporating hydrophobic molecules into organized surfactant systems. These derivatives of cyclodextrins are in

accordance with the formula:  (I) in which R1 represents a group protecting an amine function, the R2, which can be the same or different, represent OH or NH-CH<sub>2</sub><sub>m</sub>-NHR<sub>1,m</sub> being an integer from 2 to 18 and n is equal to 5, 6 or 7.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

(19) RÉPUBLIQUE FRANÇAISE  
INSTITUT NATIONAL  
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE  
PARIS

(11) N° de publication : **2 736 056**  
(à n'utiliser que pour les  
commandes de reproduction)

(21) N° d'enregistrement national : **95 07841**

(51) Int Cl<sup>8</sup> : C 08 B 37/16, A 61 K 47/40, 9/127, 31/255

(12) **DEMANDE DE BREVET D'INVENTION**

**A1**

(22) Date de dépôt : 29.06.95.

(30) Priorité :

(43) Date de la mise à disposition du public de la  
demande : 03.01.97 Bulletin 97/01.

(56) Liste des documents cités dans le rapport de  
recherche préliminaire : *Se reporter à la fin du  
présent fascicule.*

(60) Références à d'autres documents nationaux  
apparentés :

(71) Demandeur(s) : COMMISSARIAT A L'ENERGIE  
ATOMIQUE ÉTABLISS DE CARACT SCIENT TECH  
ET INDUST — FR.

(72) Inventeur(s) : DJEDAINI PILARD FLORENCE, LIN  
JING et PERLY BRUNO.

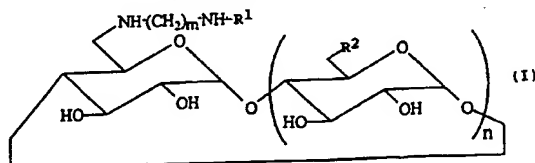
(73) Titulaire(s) :

(74) Mandataire : BREVATOME.

(54) DERIVES DE CYCLODEXTRINES, LEUR PREPARATION ET LEUR UTILISATION POUR INCORPORER DES  
MOLECULES HYDROPHOBES DANS DES SYSTEMES DE TENSIOACTIFS ORGANISES.

(57) L'invention concerne des dérivés de cyclodextrines,  
leur préparation et leur utilisation pour incorporer des molé-  
cules hydrophobes dans des systèmes tensioactifs organi-  
sés.

Ces dérivés de cyclodextrines répondent à la formule:



dans laquelle R<sup>1</sup> représente un groupe protecteur d'une  
fonction amine, les R<sup>2</sup> qui peuvent être identiques ou diffé-  
rents, représentent OH ou NH-CH<sub>2</sub>-m-NHR<sup>1</sup>, m est un nom-  
bre entier allant de 2 à 18, et n est égal à 5, 6 ou 7.

FR 2 736 056 - A1



DERIVES DE CYCLODEXTRINES, LEUR PREPARATION ET LEUR  
UTILISATION POUR INCORPORER DES MOLECULES HYDROPHOBES  
DANS DES SYSTEMES DE TENSIOACTIFS ORGANISES

5 DESCRIPTION

La présente invention a pour objet de nouveaux  
dérivés de cyclodextrines, utilisables en particulier  
pour l'incorporation en milieu aqueux de composés  
10 chimiques hydrophobes tels que des molécules  
pharmaceutiquement actives.

De façon plus précise, elle concerne des  
dérivés amphiphiles de cyclodextrines susceptibles de  
permettre, d'une part, l'inclusion de molécules  
15 hydrophobes dans la cyclodextrine pour former un  
complexe d'inclusion et, d'autre part, l'incorporation  
de tels complexes dans des systèmes de tensioactifs  
organisés tels que des petites vésicules  
phospholipidiques.

20 Cette incorporation est destinée à permettre le  
transport de la molécule hydrophobe, par exemple d'un  
principe actif, en particulier par voie  
transmembranaire, par exemple transdermique.

Les cyclodextrines ou cyclomaltooligosac-  
25 charides sont des composés d'origine naturelle formés  
par l'enchaînement de 6, 7 ou 8 unités glucose liées en  
 $\alpha$  1 $\rightarrow$ 4. De nombreux travaux ont montré que ces  
cyclodextrines pouvaient former des complexes  
d'inclusion avec des molécules hydrophobes et permettre  
30 ainsi la solubilisation de ces molécules dans des  
milieux aqueux. De nombreuses applications ont été  
proposées pour tirer profit de ce phénomène, en  
particulier dans le domaine pharmaceutique, comme il  
est décrit par D. Duchêne dans l'ouvrage intitulé  
35 "Cyclodextrins and their industrial uses", chapitre 6,

page 213 à 257, Editions de Santé, 1987. Des compositions pharmaceutiques utilisant des cyclodextrines ont d'ailleurs été commercialisées au Japon, en Italie et plus récemment en France, par  
5 exemple par Pierre Fabre Médicament pour le Brexin® qui est un complexe d'inclusion du Piroxicam dans la  $\beta$ -cyclodextrine.

Parmi les cyclodextrines utilisables, la  $\beta$ -cyclodextrine qui comporte 7 unités glucose, est la  
10 plus adaptée au niveau de la taille de sa cavité et elle est la moins coûteuse des trois. De nombreuses modifications chimiques de la  $\beta$ -cyclodextrine ont été décrites afin de la rendre amphiphile dans le but de l'incorporer à des systèmes organisés.

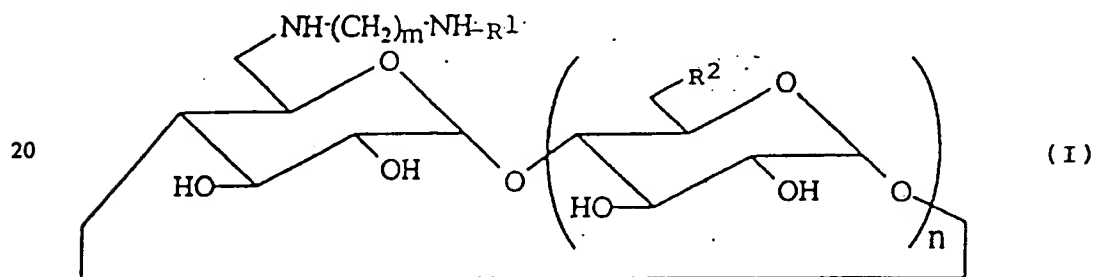
15 Ainsi, L. Jullien et coll ont décrit dans J. Chem. Soc. Perkin Trans 2, 1993, p. 1011-1020, des dérivés de  $\beta$ -cyclodextrine comportant des chaînes aliphatiques situées en positions primaire et secondaire, en vue d'incorporer ces dérivés de  
20 cyclodextrines dans des vésicules de phosphatidylcholine. Ces dérivés sont amphiphiles et peuvent donc être incorporés dans les vésicules, mais la cavité interne de la cyclodextrine n'est plus accessible en raison du fort encombrement stérique des  
25 chaînes aliphatiques. Par conséquent, ces dérivés sont incapables d'inclure des molécules hydrophobes, en particulier des molécules de principe actif.

N. Bellanger et B. Perly ont décrit dans J. Mol. Struc., 1992, 273, pages 215-226, des dérivés  
30 aminés de cyclodextrines comportant une seule chaîne aliphatique sur le groupe amine de la mono-6-désoxy-6-amino-cyclodextrine, obtenus par réaction du dérivé aminé avec un acide carboxylique. Bien que ces dérivés ne comportent qu'une seule chaîne  
35 aliphatique, ils présentent l'inconvénient de conduire

à une auto-inclusion de la chaîne aliphatique dans la cyclodextrine, ce qui ne permet ni l'incorporation à de petites vésicules de phospholipides, ni l'inclusion de molécules hydrophobes dans la cavité interne de la cyclodextrine.

La présente invention a précisément pour objet d'autres dérivés de cyclodextrines, qui comportent une ou plusieurs chaînes aliphatiques leur conférant des propriétés amphiphiles, sans conduire pour autant au phénomène d'auto-inclusion de la ou des chaînes dans la cyclodextrine. De ce fait, on peut obtenir à partir de tels dérivés des complexes d'inclusion contenant une molécule hydrophobe et l'incorporation de ces complexes dans des vésicules de phospholipides.

Selon l'invention, le dérivé de cyclodextrine répond à la formule :



dans laquelle  $R^1$  représente un groupe protecteur d'une fonction amine, les  $R^2$  qui peuvent être identiques ou différents, représentent OH ou  $NH-(CH_2)_m-NHR^1$ ,  $m$  est un nombre entier allant de 2 à 18, et  $n$  est égal à 5, 6 ou 7.

Dans ce dérivé, on obtient les propriétés amphiphiles grâce au greffage d'au moins une chaîne aliphatique  $(CH_2)_m-NH-R^1$  qui ne donne pas lieu à un phénomène d'auto-inclusion lorsque le dérivé de cyclodextrine est en milieu aqueux. De ce fait, on peut obtenir à partir de ce dérivé un complexe d'inclusion

par incorporation d'une molécule hydrophobe dans la cavité interne de la cyclodextrine, et incorporer ce complexe d'inclusion dans des petites vésicules de phospholipides.

5 De préférence, le dérivé de cyclodextrine comporte une seule chaîne aliphatique, tous les  $R^2$  représentant OH.

Dans le dérivé de cyclodextrine de l'invention, le groupe  $R^1$  joue le rôle de groupe protecteur de la  
10 fonction amine  $NH_2$ . Pour remplir ce rôle,  $R^1$  peut représenter le groupe nitrophénylsulfényle, le groupe fluorène-9-yl méthoxycarbone ou un groupe de formule  $COOR^3$  dans laquelle  $R^3$  peut être un groupe alkyle, linéaire ou ramifié, ou aryle éventuellement  
15 substitués.

Lorsqu'on utilise un groupe alkyle, celui-ci a généralement de 4 à 18 atomes de carbone, et il est de préférence ramifié.

Le groupe aryle peut être par exemple le groupe  
20 benzyle.

Avantageusement  $R^3$  représente le groupe tert-butyle.

Les dérivés de cyclodextrine de l'invention peuvent être des dérivés de l' $\alpha$ -,  $\beta$ - ou  $\gamma$ -  
25 cyclodextrine. De préférence, on utilise les dérivés de la  $\beta$ -cyclodextrine, ce qui correspond dans la formule (I) donnée ci-dessus au cas où n est égal à 6.

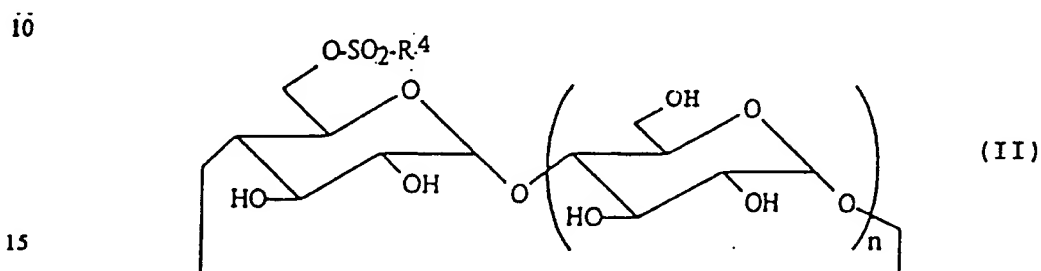
La chaîne aliphatique du dérivé de cyclodextrine de l'invention peut comporter entre les  
30 deux groupes amino, 2 à 18 atomes de carbone. On obtient en particulier de bons résultats, lorsque m est compris entre 6 et 12, par exemple égal à 6.

Les dérivés de cyclodextrine de l'invention peuvent être préparés par des procédés classiques.  
35 Ainsi, on peut préparer les dérivés de formule (I) dans

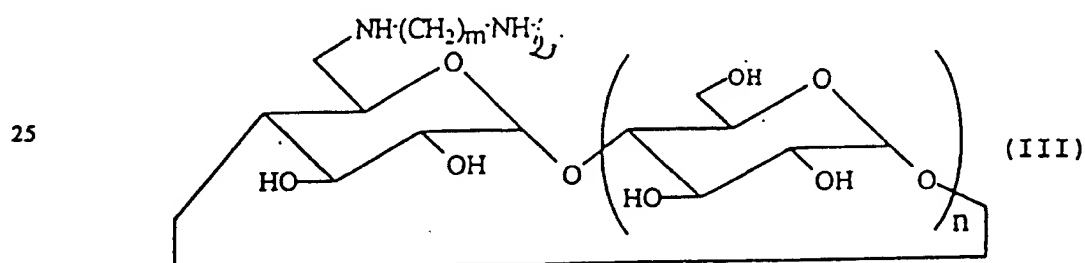
laquelle tous les  $R^2$  représentent OH, à partir des dérivés tosylés ou naphtosulphonylés correspondants.

Aussi, l'invention a également pour objet un procédé de préparation du dérivé de cyclodextrine répondant à la formule (I) donnée ci-dessus dans laquelle tous les  $R^2$  représentent OH, qui comprend les étapes suivantes :

a) faire réagir un dérivé de cyclodextrine de formule :



dans laquelle  $R^4$  est un groupe tosylo ou naphtosulfonyle, et n est égal à 5, 6 ou 7, avec un diaminoalcane de formule  $NH_2-(CH_2)_m-NH_2$  dans laquelle m a la signification donnée ci-dessus, pour obtenir un dérivé de cyclodextrine de formule :



dans laquelle n et m sont tels que définis ci-dessus, et

b) faire réagir le dérivé de formule (III) avec un réactif comportant le groupe protecteur  $R^1$  pour obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule (I).

Dans l'étape a) de ce procédé, on fait réagir le dérivé de cyclodextrine de formule (II) avec le diaminoalcane voulu dans un solvant organique tel que le diméthyl formamide (DMF) en présence d'une amine  
5 tertiaire telle que la diisopropyl éthylamine, pour accélérer la réaction.

On peut séparer le dérivé de formule (III) ainsi obtenu du milieu réactionnel par évaporation du solvant et par précipitation. On peut renouveler  
10 l'étape de précipitation et purifier ensuite le dérivé par chromatographie échangeuse d'ions afin d'éliminer la cyclodextrine naturelle n'ayant pas réagi. La précipitation peut être effectuée en ajoutant le mélange réactionnel concentré dans un solvant organique  
15 tel que l'acétone, et en séparant ensuite le précipité formé par filtration ou centrifugation. On parvient ainsi à éliminer totalement les dérivés de l'acide sulfonique ainsi que la diamine présente en excès et la diisopropyléthylamine qui sont tous solubles dans un  
20 solvant organique tel que l'acétone.

Dans l'étape b), on fait réagir le dérivé de formule (III) avec le réactif voulu, par exemple un dicarbonate de ditert-butyle lorsque  $R^1$  représente le groupe tert-butyloxycarbonyle, dans un solvant  
25 organique tel que le DMF.

Lorsque  $R^1$  représente le groupe nitrophényle sulfényle, le réactif utilisé peut être le chlorure de nitrophényl sulfényle.

Lorsque  $R^1$  représente le groupe fluorène-9-yl-méthoxy carbonyle, le réactif utilisé peut être le  
30 fluorène-9-yl-méthoxy succinimidyl carbonate.

Lorsque  $R^1$  est le groupe benzyloxycarbonyle ou un groupe de formule  $-COOR^3$ , on peut utiliser pour cette réaction le chlorure ou l'azide de  
35 benyloxycarbonyle.



Le dérivé de cyclodextrine de formule (I) ainsi obtenu peut être purifié par précipitations successives dans un solvant organique tel que l'acétone.

Le dérivé tosylé ou naphtosulfonylé de formule  
5 (II) utilisé comme produit de départ dans le procédé de l'invention peut être préparé par réaction de chlorure de p-toluène sulfonyle ou de chlorure de naphtosulfonyle sur la cyclodextrine correspondante en milieu aqueux.

10 Lorsque l'on veut préparer un dérivé de cyclodextrine répondant à la formule (I) donnée ci-dessus, dans laquelle un ou plusieurs  $R^2$  représentent  $NH-(CH_2)_m-NHR^1$ , on peut partir des dérivés halogénés, bromés ou iodés, correspondants que l'on fait réagir  
15 avec le diaminoalcane de formule  $NH_2-(CH_2)_m-NH_2$ , puis effectuer comme précédemment une réaction en vue de protéger les groupes amines du dérivé de cyclodextrine par les groupes protecteurs voulus.

L'invention a encore pour objet les complexes  
20 d'inclusion du dérivé de cyclodextrine de formule (I) avec un composé chimique hydrophobe telle qu'une molécule pharmaceutiquement active.

Les composés chimiques hydrophobes susceptibles d'être inclus dans le dérivé de cyclodextrine de  
25 l'invention peuvent être de différents types. A titre d'exemple de tels composés on peut citer des produits cosmétiques, des vitamines, des molécules pharmaceutiquement actives telles que celles décrites par D. Duchêne dans l'ouvrage intitulé "Cyclodextrins  
30 and their industrial uses" précédemment mentionné.

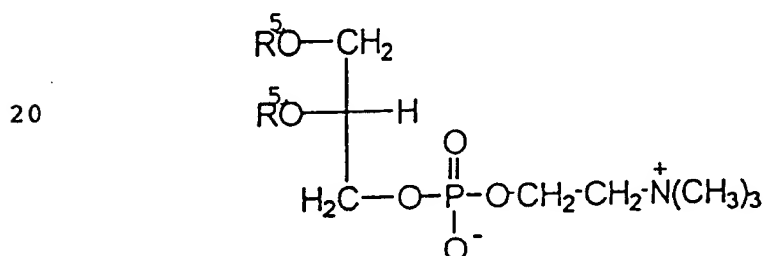
De préférence dans l'invention, le composé chimique hydrophobe est une molécule pharmaceutiquement active.

A titre d'exemple de telles molécules, on peut citer les composés aromatiques de la famille des anthracyclines.

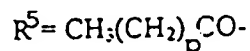
Comme on l'a indiqué plus haut, les dérivés de cyclodextrines de l'invention sont particulièrement intéressants en vue de leur incorporation, notamment sous la forme de complexes d'inclusion contenant des molécules hydrophobes, dans des systèmes organisés de tensioactifs.

Aussi, l'invention a aussi pour objet un système de tensioactif organisé comprenant un dérivé de cyclodextrine ou un complexe d'inclusion de ce dérivé conformes à l'invention.

Les tensioactifs susceptibles de former de tels systèmes organisés peuvent être de différents types. A titre d'exemple, on peut citer les phospholipides répondant à la formule générale suivante :



25



dans laquelle  $\text{R}^5$  représente  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_p\text{CO}-$  avec  $p$  étant un nombre entier allant de 6 à 18.

Ces phospholipides sont capables de former de petites vésicules unilamellaires. C'est le cas en particulier du dimyristodylphosphatidylcholine (DMPC) qui répond à la formule ci-dessus avec  $p = 12$ .

Pour incorporer le complexe d'inclusion dans le système organisé de tensioactif, on peut dissoudre le

complexe dans l'eau, puis ajouter le tensioactif et soumettre l'ensemble à une sonication.

D'autres caractéristiques et avantage de l'invention apparaîtront mieux à la lecture des  
5 exemples suivants donnés bien-entendu à titre illustratif et non limitatif, en référence aux figures 1 à 3 annexées.

Les figures 1 et 2 illustrent les spectres de résonance magnétique nucléaire du proton du dérivé de cyclodextrine obtenu dans l'exemple 1 (spectre 1), du  
10 complexe d'inclusion obtenu dans l'exemple 2 (spectres 2 et 4), et de l'ASANA seul (spectre 3).

La figure 3 illustre les spectres de résonance magnétique nucléaire du  $^{31}\text{P}$  du complexe d'inclusion de  
15 l'invention dans le DMPC (spectre 5), du DMPC avec le dérivé de cyclodextrine de l'exemple 1 (spectre 6) et du DMPC seul (spectre 7).

**EXEMPLE 1 : Préparation du mono-6-désoxy-6-N-Boc-diamino-hexane-cyclomaltoheptaose.**

20 a) Préparation du mono-6-désoxy-6-p-toluène sulfonyl-cyclomaltoheptaose.

60 g de cyclomaltoheptaose (52,8 mmol) sont mis en suspension dans 500 ml d'eau distillée. On ajoute goutte à goutte 6,57 g (164 mmol) de soude caustique  
25 dissoute dans 20 ml d'eau sur 5 minutes avec forte agitation magnétique. A la solution limpide obtenue sont ajoutés 10,08 g (52,9 mmol) de chlorure de p-toluène sulfonyle dans 30 ml d'acétonitrile goutte à goutte sur 10 minutes. Après 2 h d'agitation à  
30 température ambiante, le précipité formé est éliminé par filtration et le filtrat est conservé 48 h à 4°C. Le précipité est isolé par filtration sous vide, lavé par 50 ml d'eau glacée et recristallisé immédiatement dans l'eau bouillante. Après une nuit à 4°C, le  
35 précipité est filtré et séché sous vide à 30°C. On

obtient ainsi 7,5 g (12 %) d'un composé pur conforme aux spécifications.

b) Synthèse du mono-6-désoxy-6-diamino-hexane-cyclomaltoheptaose.

5 Dans un ballon de 250 ml, surmonté d'un réfrigérant, on introduit 450 mg (3,87 mmol) de diaminohexane en solution dans 15 ml de DMF. On ajoute goutte à goutte 400 µl (2,33 mmol) de diisopropyléthylamine et on laisse sous agitation  
10 pendant 10 min. 1 g (0,776 mmol) du mono-6-désoxy-6-p-toluène sulfonyl-cyclomaltoheptaose obtenu précédemment en solution dans 10 ml de DMF est ajouté goutte à goutte à la solution précédente. Le mélange réactionnel est maintenu 3 jours sous agitation et à 75°C. Le  
15 solvant est éliminé sous pression réduite à 40°C. L'huile résiduelle est reprise par 5 ml d'eau, puis traitée par 150 ml d'acétone. Après une nuit à 4°C, le précipité est isolé, lavé à l'acétone et séché sous vide à 30°C. On obtient 700 mg (73 %) de mono-6-désoxy-6-diamino-hexane-cyclomaltoheptaose. L'ami-  
20 nocyclusodextrine obtenue contient toujours une faible proportion de cyclodextrine non modifiée provenant de l'étape de tosylation. Cette dernière est éliminée facilement par une chromatographie sur résine échangeuse d'ion comme suit. Une solution de mono-6-désoxy-6-diamino-hexane-cyclomaltoheptaose (700 mg)  
25 dans 10 ml d'eau est appliquée à une colonne contenant 70 ml de résine Lewatit SP 1080 sous forme H<sup>+</sup> (Merck) en suspension dans l'eau. Après lavage par 200 ml d'eau,  
30 la mono-6-désoxy-6-diamino-hexane-cyclomaltoheptaose est éluée par une solution aqueuse d'ammoniaque à 6 %. 200 ml de l'éluat basique sont collectés et concentrés sous vide à 30°C. Les dernières traces d'ammoniaque sont éliminées par évaporation sous  
35 vide en présence de 20 ml d'eau. Le résidu est repris

dans un minimum d'eau et est précipité par 80 ml d'acétone, maintenu à 4°C pendant une nuit, isolé par filtration, lavé à l'acétone et séché sous vide à 30°C. On obtient ainsi 580 mg de composé final totalement  
 5 débarassé de la cyclodextrine d'origine.

MS :  $m/z = 1233$   $[M+H]^+$  ( $M = 1232$  calc pour  $C_{48}N_2O_{34}H_{84}$ ) ;

RMN ( $^{13}C$ , 125 MHz,  $d_6$ -DMSO) : 106 ppm (C-1), 88 et 85,5 ppm (C-4) 77-74,5 ppm (C-2, C-3 et C-5), 63,8  
 10 ppm (C-6), 54 ppm ( $-NH-CH_2$  et  $CH_2-NH_2$ ), 33,6-30,5 ppm (4  $CH_2$ ).

c) Synthèse du mono-6-désoxy-6-N-Boc-diamino-hexane-cyclomaltoheptaose.

A 50 mg (0,041 mmol) de mono-6-désoxy-6-  
 15 diamino-hexane-cyclomaltoheptaose dans 5 ml de DMF, on ajoute 12  $\mu$ l (0,049 mmol) de ditertiobutylbiscarbonate à 0°C et sous agitation. On laisse revenir à température ambiante et sous agitation pendant 2 jours et on élimine le solvant sous pression réduite à 30°C jusqu'à  
 20 l'obtention d'une huile. Celle-ci est traitée par 75 ml d'acétone. Après une nuit à 4°C, le précipité est isolé, lavé à l'acétone et séché sous vide à 30°C. On obtient 46 mg (86%) de mono-6-désoxy-6-N-Boc-diamino-hexane-cyclomaltoheptaose.

25 MS :  $m/z = 1333$   $[M+M]^+$  ( $M = 1332$  calc pour  $C_{53}H_{92}O_{36}N_2$ ) ;

IR :  $\nu = 1665$   $cm^{-1}$  (NHCO) ;

RMN ( $^1H$ , 500 MHz,  $D_2O$ ), 5,05-5,20 ppm (H-1), 4,13 ppm (H-6A), 3,85-3,95 ppm (H-3), 3,65-3,74 ppm (H-  
 30 2) 3,60-3,78 ppm (H-4), 3,41 ppm (H-4A) 4,29, 4,05, 3,95-3,75 et 3,63 ppm (H-5), 3,85 et 3,72 ppm (CH-a' et CH-b'), 3,24 ppm ( $CH_2-C$ ), 2,97 et 2,91 ppm (CH-a'' et CH-b''), 1,60 ppm ( $CH_2-d$ ), 1,40 ppm ( $CH_2-e$ ), 1,30 ppm ( $CH_2-f$ ), 1,52 ppm ( $(CH_3)_3$ ).

EXEMPLE 2 : Préparation d'un complexe d'inclusion du mono-6-désoxy-6-N-Boc-diamino-hexane-cyclomaltoheptaose et du sel de sodium de l'acide anthraquinonesulfonique (ASANA).

5 On prépare le complexe d'inclusion de l'ASANA en formant une solution aqueuse comprenant 6 mol/l d'ASANA et 6 mol/l de mono-6-désoxy-6N-Boc-diamino-hexane-cyclomaltogheptaose. On examine ensuite la solution par spectrométrie par RMN du proton à 500 MHz  
10 et à 298 K dans D<sub>2</sub>O. Le spectre obtenu dans ces conditions est représenté sur les figures 1 et 2 (spectres 2 et 4). Sur ces figures, on a également représenté le spectre de la cyclodextrine de l'exemple 1 seule (spectre 1) et de l'ASANA seule (spectre 3).

15 Sur la figure 1, le spectre 1 est le spectre obtenu avec une solution aqueuse à 6 mol/l du dérivé de cyclodextrine seule.

Si l'on compare les spectres 1 et 2 de la figure 1, on remarque que l'analyse des déplacements  
20 chimiques des différents protons montre une variation des déplacements chimiques des protons H-3 et H-5 de la  $\beta$ -cyclodextrine modifiée par inclusion.

Sur la figure 2 (le spectre 3) est le spectre obtenu avec une solution aqueuse contenant uniquement  
25 6 mol/l d' ASANA.

Si l'on compare les deux spectres 3 et 4, le déplacement des protons aromatiques de l'ASANA met en évidence l'inclusion de celui-ci dans la cavité du dérivé de cyclodextrine.

30 EXEMPLE 3 : Incorporation du complexe d'inclusion de l'exemple 2 à de petites vésicules unilamellaires de dimyristoylphosphatidylcholine (DMPC).

On prépare une solution (CHCl<sub>3</sub>/MeOH 85 : 15)  
15 mM de DMPC. On évapore le solvant sous pression  
35 réduite à 25°C et on ajoute ensuite 500  $\mu$ l d'eau. On

agite le tout au moyen d'un vortex afin d'obtenir une suspension homogène et on lyophilise. A la solution de complexe décrite dans l'exemple 2 ou à une solution à 6 mmol/l du dérivé de cyclodextrine seule de l'exemple 1, on ajoute la DMPC lyophilisée. L'ensemble est d'abord agité, puis soniqué pendant 20 min jusqu'à l'obtention d'une solution transparente.

On examine ensuite la solution par spectrométrie RMN du  $^{31}\text{P}$  à 81 MHz. Le spectre obtenu dans ces conditions est représenté sur la figure 3 (spectre 5).

Sur cette figure, le spectre 6 est celui obtenu lorsqu'on utilise une solution à 6 mmol/l du dérivé de cyclodextrine seul de l'exemple 1 au lieu de la solution du complexe d'inclusion de l'exemple 2, et le spectre 7 est celui de la solution de départ à 15 mmol/l de DMPC.

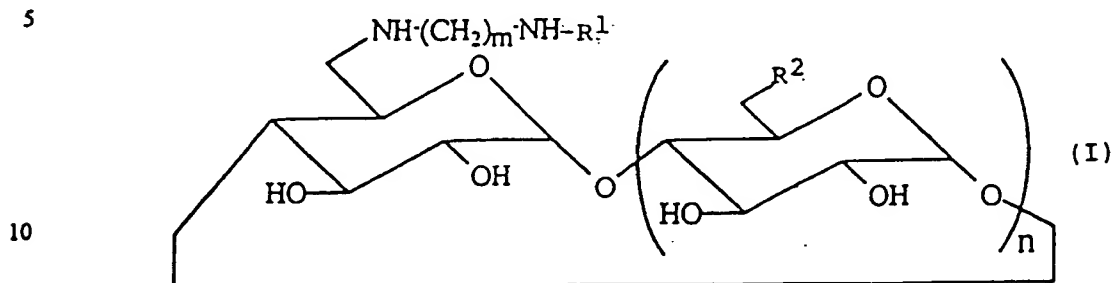
En comparant ces spectres, on peut voir que l'inclusion de l'ASANA dans la cavité du dérivé de cyclodextrine favorise l'incorporation de la chaîne hydrophobe dans les petites vésicules unilamellaires de DMPC.

Ces vésicules de DMPC sont des modèles de membranes biologiques. L'incorporation des chaînes aliphatiques du dérivé de cyclodextrine conduit à des structures de type vésiculaire tapissées de cavités de cyclodextrine restant à l'extérieur qui peuvent inclure des molécules exogènes hydrophobes de façon spécifique.

Ainsi, les dérivés de cyclodextrine de l'invention peuvent être incorporés à de petites vésicules unilamellaires de phospholipides tout en conservant leur capacité d'inclusion de molécules hydrophobes.

## REVENDECATIONS

1. Dérivé de cyclodextrine répondant à la formule :



dans laquelle  $R^1$  représente un groupe protecteur d'une fonction amine, les  $R^2$  qui peuvent être identiques ou différents, représentent OH ou  $NH-(CH_2)_m-NHR^1$ , m est un nombre entier allant de 2 à 18, et n est égal à 5, 6 ou 7.

2. Dérivé de cyclodextrine selon la revendication 1, caractérisé en ce que  $R^1$  est le groupe nitrophénylsulfényle, le groupe fluorène-9-yl-méthoxy carbonyle, ou un groupe de formule  $-COOR^3$  dans laquelle  $R^3$  est un groupe alkyle ou aryle éventuellement substitué.

3. Dérivé selon la revendication 2, caractérisé en ce que  $R^1$  est le groupe t-butyl oxycarbonyle.

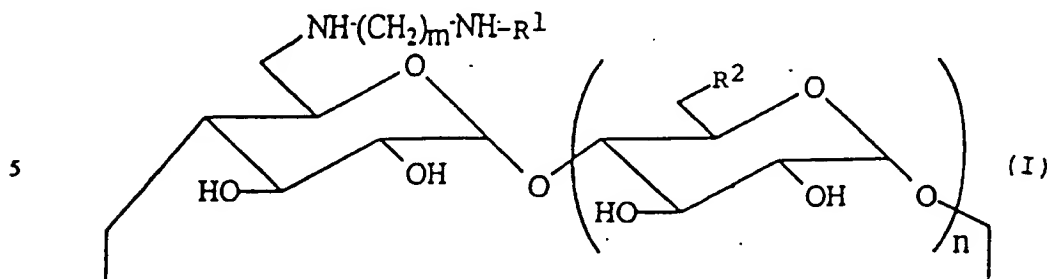
4. Dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 3, caractérisé en ce que tous les  $R^2$  représentent OH.

5. Dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 4, caractérisé en ce que n est égal à 6.

6. Dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications 1 à 5, caractérisé en ce que m est égal à 6.

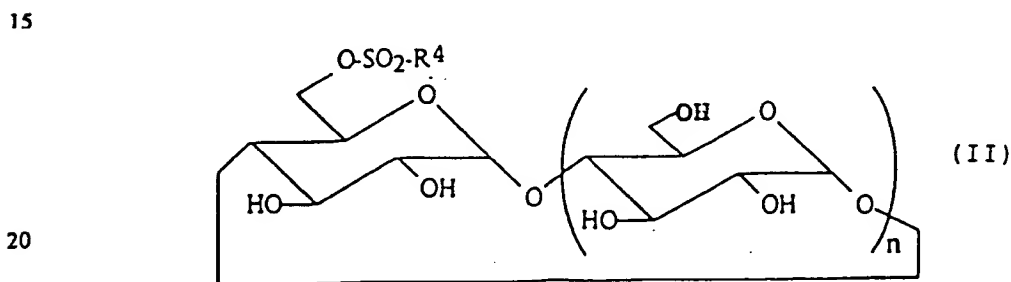
7. Procédé de préparation d'un dérivé de cyclodextrine répondant à la formule :



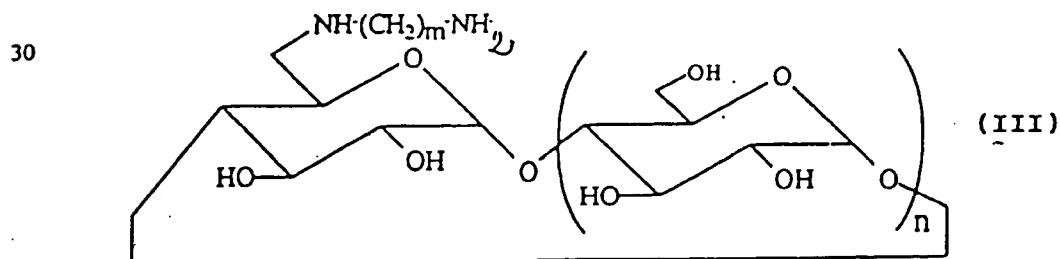


dans laquelle  $R^1$  représente un groupe protecteur d'une  
 10 fonction amine, les  $R^2$  représentent OH, m est un nombre  
 entier allant de 2 à 18, et n est égal à 5, 6 ou 7,  
 caractérisé en ce qu'il comprend les étapes suivantes :

a) faire réagir un dérivé de cyclodextrine de  
 formule :



dans laquelle  $R^4$  est un groupe tosylo ou  
 naphtosulfonyle, et n est égal à 5, 6 ou 7, avec un  
 25 diamino alcane de formule  $NH_2-(CH_2)_m-NH_2$  dans laquelle  
 m a la signification donnée ci-dessus, pour obtenir un  
 dérivé de cyclodextrine de formule :



dans laquelle n et m sont tels que définis ci-dessus,  
et

b) faire réagir le dérivé de formule (III) avec  
un réactif comportant le groupe protecteur  $R^1$  pour  
5 obtenir le dérivé de cyclodextrine de formule (I).

8. Complexe d'inclusion d'un dérivé de  
cyclodextrine selon l'une quelconque des revendications  
1 à 6 avec un composé chimique hydrophobe.

9. Complexe selon la revendication 8,  
10 caractérisé en ce que le composé chimique hydrophobe  
est une molécule pharmaceutiquement active.

10. Complexe selon la revendication 9,  
caractérisé en ce que la molécule pharmaceutiquement  
active est une anthracycline.

15 11. Système de tensioactif organisé comprenant  
un dérivé de cyclodextrine selon l'une quelconque des  
revendications 1 à 6 ou un complexe d'inclusion selon  
l'une quelconque des revendications 8 à 10.

12. Système selon la revendication 10,  
20 caractérisé en ce que le tensioactif est un  
phospholipide.

1/2

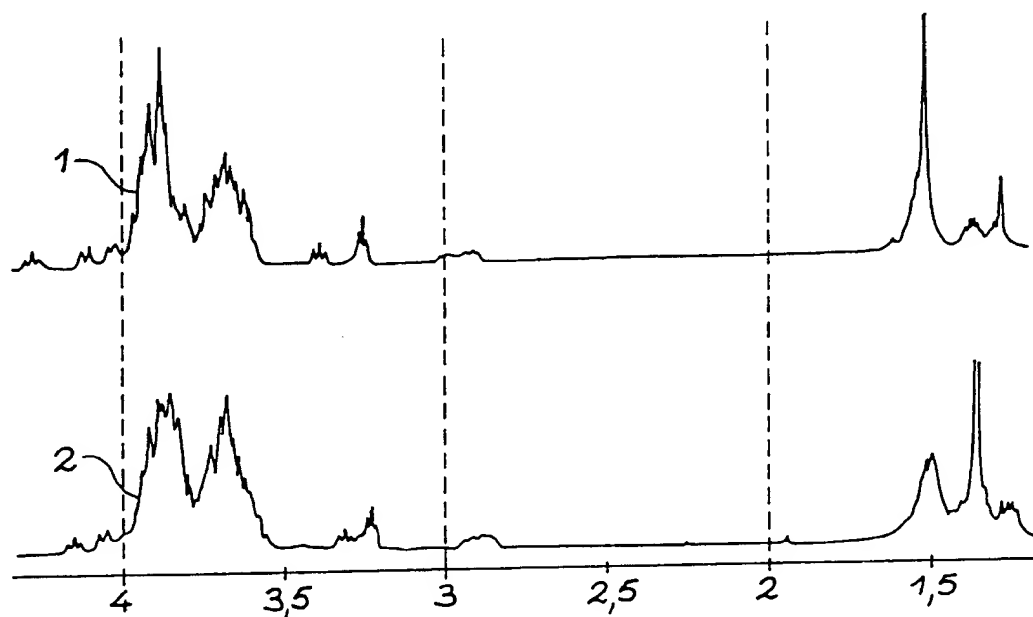


FIG. 1

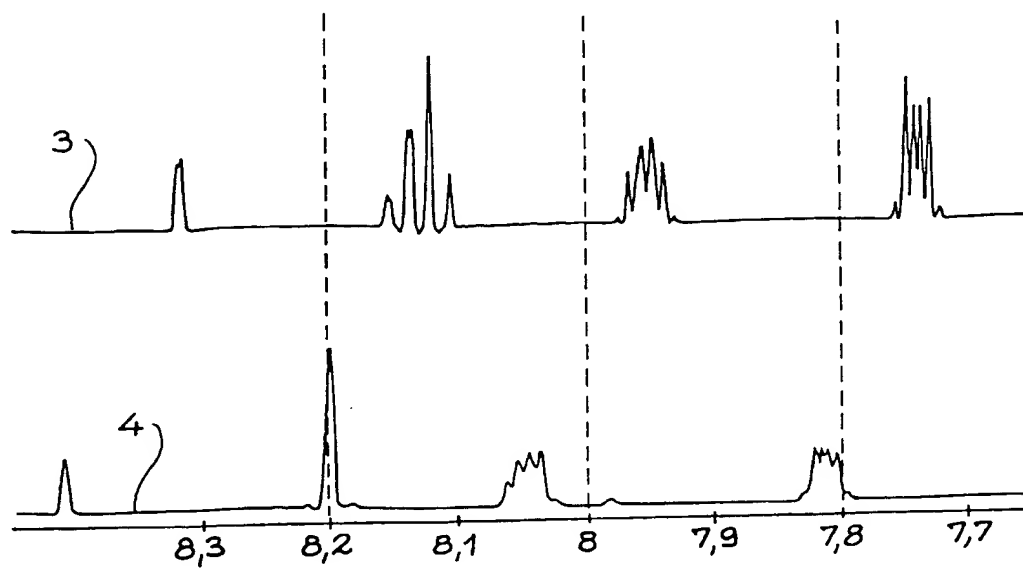


FIG. 2

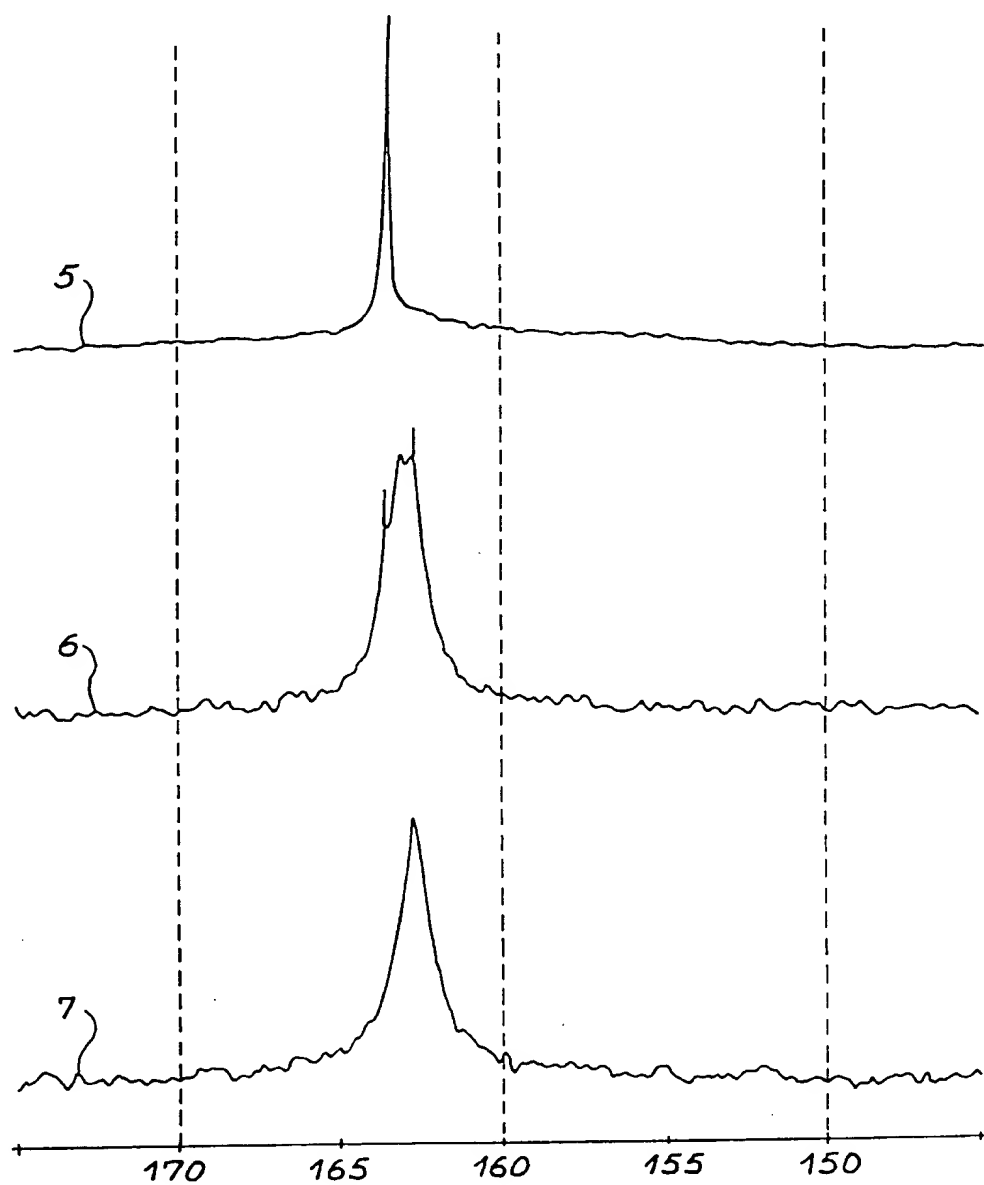


FIG. 3

REPUBLIQUE FRANÇAISE

INSTITUT NATIONAL  
de la  
PROPRIETE INDUSTRIELLE

RAPPORT DE RECHERCHE  
PRELIMINAIRE

établi sur la base des dernières revendications  
déposées avant le commencement de la recherche

2736056

N° d'enregistrement  
national

FA 518366  
FR 9507841

DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS		Revendications concernées de la demande examinée
Catégorie	Citation du document avec indication, en cas de besoin, des parties pertinentes	
A	WO-A-90 02141 (AUSTRALIAN COMMERCIAL RESEARCH & DEVELOPMENT LIMITED) 8 Mars 1990 * page 78 - page 80; exemples 32-39 * ---	1,7
A	WO-A-95 15746 (THE SCHOOL OF PHARMACY) 15 Juin 1995 * abrégé; revendications * -----	11
		DOMAINES TECHNIQUES RECHERCHES (Int. CL. 6)
		C08B A61K
Date d'achèvement de la recherche		Examineur
15 Mars 1996		Mazet, J-F
<p><b>CATEGORIE DES DOCUMENTS CITES</b></p> <p>X : particulièrement pertinent à lui seul Y : particulièrement pertinent en combinaison avec un autre document de la même catégorie A : pertinent à l'encontre d'au moins une revendication ou arrière-plan technologique général O : divulgation non-écrite P : document intercalaire</p> <p>T : théorie ou principe à la base de l'invention E : document de brevet bénéficiant d'une date antérieure à la date de dépôt et qui n'a été publié qu'à cette date de dépôt ou qu'à une date postérieure. D : cité dans la demande L : cité pour d'autres raisons ..... &amp; : membre de la même famille, document correspondant</p>		

2

EPO FORM 1503 01.82 (P04C13)